

.....  
 解 説  
 .....

## Agrochemistry and Biology Series

## 苗分業時代を迎える，組織培養苗の行方 植物組織培養の実用化小史

小さな企業のささやかな取組み

土 下 信 人

沖縄協同ベルデイ (株)

(平成6年11月20日受理)

### Plant Tissue Culture Business of Verde, Present and Future

Nobuhito TSUCHISHITA

*Okinawa Kyodo Verde Inc., Isagawa, Nago 905, Japan*

#### はじめに

植物バイオテクは、「明日の農業を変革する」といわれながらも、その効力を十分に発揮しないで今日にいたっている。植物バイオテクの進展によって、新たな可能性を秘めた数多くの植物細胞が生み出され、その1個の細胞から植物体再生も可能となった<sup>1)</sup>。しかし、植物バイオテクの歴史の浅さから、越えなければならないハードルは大きく、植物バイオテクが農業に貢献していくにはさらなる開発と努力が要求されている。ここでは、(株)ベルデイが取り組んできた組織培養による大量増殖の実用化の経過と現状について述べながら、その課題を明らかにしていきたい<sup>2),3)</sup>。

#### 植物の組織培養の企業化のはじまり

1) 豊富な農業経営のノウハウをもった農家と未熟なカビの培養屋が出会い、「明日の夢のある農業をつくろう」と意気投合し、(株)ベルデイ メリクロン研究所をつくることを決めたのは、1982年1月であった。それから先どのような困難が待ち受けているか知るよしもなかったが、期待に胸ふくらませて、クリーンベンチ1台と2.5坪の培養室から出発した。

2) 植物の組織培養技術は、花き種苗メーカーである(株)ミヨシで1か月ほど研修を受けて習得した。その技法は、どちらかといえば職人的なものであり、それは現

在も連綿と続いている。当時は、ミヨシにおいても、培養植物の量は多くなく、カーネーション、カスミソウなどの親株を増殖していた。

3) ベルデイ社のある愛知県は、農業における先進県で、多くの優秀な農家があったので、組織培養事業を成立させる条件があった。植物の組織培養といっても何を増殖するかということがわからず、農家からの委託を受けることにした。最初に農家の尾崎さんからセントポーリアの増殖委託を受け仕事がスタートした。このときには、1品種100本を数十種というオーダーであった。それからさまざまな農家が、ベルデイ社を訪れるようになるなかで、増殖委託を基本として、「植物をコピーします」という会社の方針が確定した。農家が増殖して欲しい種々の植物の培養委託を受けるため、技術開発を旺盛に行なわなければならなかった。また、使いやすい培養容器(プラントボックス)、作業性の高いクリーンベンチの開発、植物支持体の寒天の改良、培養室へのクリーンシステムの導入、エアージャワーの完備などを進め、研究室の延長の組織培養ではなく、企業にあった生産システムを構築した。しかし、なかなか企業として採算のとれる状況にならなかった。

#### 世界の組織培養会社をみてまわる

組織培養の実用化の動向を知るために、1983年オーストラリア、アメリカ(カリフォルニア、フロリダ)、

イギリス、デンマーク、オランダの10以上の植物の組織培養会社をみてまわった。当初訪問を予定していた「組織培養会社」が、現地オーストラリアについたら倒産していて、やはり厳しいものだったと思った。アメリカ・フロリダのハートマン社の組織培養苗の委託生産の考え、イギリスのトワイホード社の植物の品目の豊富さとウイルス検定まで取り組んでいる種苗生産の奥行きに感銘した。世界の組織培養会社をみて、① 農業は、苗生産と栽培は分業になること、② 組織培養苗の生産規模を100万本以上にしなければ成り立たないこと、③ あらゆる植物を商品化しなければならない、と感じた。そして、日本においても植物のコピー業は、工夫すれば経営的に成り立つという確信を得た。今後の目標は、世界一のトワイホード社を追い越すことだと設定した。後談になるが、イギリスのトワイホード社は、閉鎖され、アメリカに主力を移し、カリフォルニアに本社をおき、フロリダのハートマン社、ウエハウザー社を買収し、現在も、世界一の組織培養の規模を誇っている。その大株主が、キリンビール社であり、ベルデイ社にもキリンビール社の資本が入っている。

### 植物コピー業の事業化にむけて

#### 1. めずらしきものの大量コピー

ベルデイ社が、組織培養の技術を使って、はじめて大量に増殖したのは、静岡県の大庭さんから委託された観葉植物のアローカシア・アマゾニカであった。「希少価値」であり、「幻の植物」ともいわれたが、大量生産をして市場価格が暴落するということが起こった。「花とおもしろきと、めずらしきと、これ三つは、同じ心なり」(風姿花伝——世阿彌)といわれるように、めずらしいことが花の特性となっている。「めずらしきもの」を大量増殖しても、「おもしろきもの」を維持できない限り、市場で安定して販売できないことを痛感した。

#### 2. 大量生産と少量多品目の生産体制の確立

ベルデイ社が、大きく転換したのは、愛知県西尾市の木村園芸からの20万本のカラジュウムの受注を受け、生産したことにある。短時間に大量の苗を納めるという経験は、培養サイクルの確立、培養苗の生産単価の考え方、苗のハンドリング、鉢上げ以降の管理など貴重な経験ができ、非常に重要な転機となった。これは植物を大量に扱うことによってはじめて得られる技術が多いことを物語っている。ベルデイ社にとって「委託生産」方式は、個々の農家の多様な植物の少量から大量のオーダーに対応している。種苗メーカーの信頼は、「決められた期日に、決められた数量を、決められた苗の大きさ

と規格で、揃っていて、病気がない苗を納品」して得られる。そのため組織培養による増殖技術だけを確立するだけでなく、さまざまな納期にあわせて多品目の植物を生産するという技術も求められた。この点でのノウハウの蓄積が今日のベルデイ社を形成している。また組織培養した苗は、性能が良いというばかりでなく、やはりみたくにもりっぱな苗でないと農家が満足しない。

#### 3. 培養対象植物を花き・野菜に広げる

農家のなかには、1年以上先の委託生産になると種苗の納品をキャンセルされてしまうことがあった。農家は「昨日のオレと違うから、一年前に頼んだことは覚えていない」といわれてしまう。そのような農家への対応や、観葉植物の組織培養苗生産のマーケットの狭さから、新たな品目として花き、野菜の分野への進出をはかっていった。それに応じて、組織培養の苗のユーザーの対象が、個々の農家のみならず種苗メーカーや経済連・農協に広がっていった。

育種者の権利を守る種苗法が制定されることによって、種苗メーカーにおいては、新しい品種開発がより激烈になっていた。そのため、種苗メーカーは、育種に専念し、苗生産を委託する動きがあった。それと「植物を大量にコピーする」ベルデイ社の存在が合致した。花き種苗メーカーの第一園芸からスターチス・ハイブリットの委託がはじまり、受注が数量的にまとまっていった。野菜の品目としては、イチゴ、ショウガ、サトイモ、ジネンジョ等に取り組みはじめた。そのようななかで、キリンビール社や全農営農開発室との技術提携がはじまり、さらに新しい植物群の開発が行なわれ、それまでの組織培養技術が体系的にまとめられるようになった。生産規模に関しては、組織培養苗の企業経営として成立するために年間生産量が300万本を越えることが必要であった。

#### 4. 野菜におけるダイレクト法

組織培養技術の開発を行なうなかで、ベルデイ社では、「イチゴのダイレクト法」<sup>4)</sup>を確立した。従来のイチゴの培養苗は、1茎頂1苗条法で培養器内で増殖するのは少量であった。その培養苗を圃場で栽培して、ランナーを発生させ、幾世代のあとに、苗が生産者にわたるという状況であった。この方法の問題点は、生育期間が長くかかり管理費を要することと、栽培途中で土壌汚染やアブラムシ汚染にかかる可能性も増え、培養苗本来の性能が活かされないことにある。ダイレクト法<sup>4)</sup>とは、培養器内で茎頂から苗条に成長させた後、植物ホルモンにより繰り返し増殖させ必要な苗まで増やすことにある。このダイレクト法では、選抜されたイチゴが早く農家の

手にわたり、従来の手間が省力化され、産地間の競争に対して有利に展開できる。春に選抜されたイチゴのランナーが、10本あれば培養器内で増殖させ、翌年の春には、イチゴの原々種の苗が、10,000本農家にわたり、その冬にはイチゴが収穫できる。

この手法がもっとも効果的に発揮されたのが、サツマイモである。サツマイモは、塊根部異常症すなわち帯状粗皮病が1983年頃発生した。それが、ウイルスフリーの組織培養苗を使用すれば、劇的に解決することが解明された。しかし、組織培養苗を少量生産しては、その病気に対する対策が広範囲にたてられないことから、サツマイモにダイレクト法が活用され、一気に広がっていった。このことによって、青果用のサツマイモの品質が著しく向上することとなった。このように「野菜のダイレクト法」は、植物のコピー苗生産を事業化するうえで大きな力となった。

### 組織培養における技術的問題点と対策

#### 1. 葉片培養から茎頂培養（メリクロン）へ

当初は、セントポーリア、ペコニアの葉片培養による増殖に取り組んだ。増殖本数が増えてくると培養器内にバクテリアが発生することが起こった。また、葉片培養からの増殖は、セントポーリアのバレンシアなどのストライプタイプやリーガースペコニアの覆輪系は同じ花が咲かないということが起こった。このようなこともあって、葉片培養から茎頂培養に切り換える方向に技術開発を進めた。茎頂培養とは、茎頂あるいは側芽の先端を切り出し、植物ホルモンにより頂芽優勢を抑制し、カルスを經由しないで多芽状の組織を形成させ、植物を増殖する方法（わき芽多芽体法）である。この方法によって、種苗生産の期間がかかるものの、①大量生産の確実性が増し、②健全で、母株と同じ個体が得られるようになった。しかし、茎頂培養の方法をとっても、バクテリア汚染をなくす技術が求められている。植物体内にいる内生菌を取り除いて無菌的な植物を培養器内にいれる技術の確立は、今日の課題でもある。

#### 2. 植物体から溶出する褐変性物質について

植物によっては組織から培地内に褐変性物質を溶出し、生育が停止したり、枯死してしまう場合がある<sup>5)</sup>。褐変性溶出物は、タンニンやポリフェノール物質などである。褐変現象は、酵素的現象と非酵素的現象によって引き起こされる。培養上で褐変の激しいものは、木本類（ユーカリなど）に多いが、ストレチア、モンステラ、カラテア、ネペンテス、アニゴザンサス（カンガルーポー）などの草本類でも褐変が起こり培養が困難である。その

対策として①酸素が関与しているため、カットをすばやくし、培地のなかにきちんと切り口を埋め込むことや、培地に酸化防止剤（ポリビニルピロリドンなど）を加える、②MS培地は、塩濃度が高く褐変しやすいので、低塩濃度の培地を用いる、③植物ホルモンであるベンジルアデニン（BA）濃度を低くする、④培養温度を低くする、⑤移植を早くする、⑥固体培地を使用せず液体培地で行なう、などの対策が考えられる。

#### 3. 培養苗における変異について

植物をコピーするということから、親と同じものを農家に供給することが求められている。そのため、形態的な変化だけでなく性質の変化も「変異」として農家から指摘されることがある。変異には生理的変異と遺伝的変異がある。生理的変異はおもに植物ホルモンによるもので、できるだけ低濃度のホルモンを用いることが望ましい。一方、遺伝的変異は母株にした植物体内に源があって、それが発現する場合と培養過程で変異が発生する場合の二通りがある。前者は変異を含まない母株を選択することによりその発生を防ぐことができる。後者は培養法によって変異発生が異なり、カルスやプロトプラスト培養では発生する頻度が高いが、茎頂培養ではほとんど発生しない。培養過程で生じる変異の原因はまだ十分明らかになっていない。以下にベルデイ社が経験した変異といわれた例を具体的に述べる。

##### 1) 組織培養における若返り現象

キクの培養苗を農家に供給し、そのまま定植したら、樹勢が強すぎて、葉が厚くなりすぎ、開花が2週間くらい遅れるという問題が起こった。その後、そのキクを親株にして、挿し木した後収穫すれば、均一に揃って、品質の良いものができることが判明した。サトイモ（石川早生）の培養苗を生産し圃場に定植したら、地上部の生育は旺盛であったが、掘ったイモは小さかった。培養苗は、一般に樹勢が旺盛であり、肥料の吸収も旺盛である。そのため、栄養生長から生殖生長に切り替わりにくい。培養苗を栽培するとき肥培管理のうえで窒素成分を基準施肥量から減らす必要がある。

##### 2) サイトカイニン後遺症

培養過程において、増殖率をあげるために、高濃度の植物ホルモンを使用する場合（BAを2ppm以上）があった。それにより、植物によっては、鉢上げ後も多芽体を形成してしまうことがあり、目的とする植物の収穫に適さない場合が生じた（イチゴ、アロエ、サトイモ科植物など）。観葉植物においては、それを利用して、芽を多く出させ、植物の形態をかえることにより商品性を高めることができる。また、観葉植物を高濃度ホルモン

で、意識的に継代培養を続けると親株と性質の違った株が生まれるが、調査すると「先祖かえり」であった。

### 3) キメラ植物

パイナップルの培養については、変異の報告がある<sup>6)</sup>。パイナップルの変異は、葉密度、葉の幅、葉色、ロウ質、トゲなど多様に発現した。培養する部位によっても変異の頻度が違うことが解明された。幼少果実、えい芽の変異出現頻度が高く、冠芽は少なかった。培養対象の母株が遺伝的に安定であるかも検討する方法が求められる。パイナップルは、トゲナシが要求されるが、培養によりトゲありの頻度が高くなり、トゲの発生は母株のキメラ性によると推定されている。トゲナシファッシャータについても、同様の傾向がみられた。また観葉植物には、キメラ植物が多く、ポトス、斑入りアナスなど、親と同じものを植物として実用化することは困難である。

### 4. 培養苗の発根について

組織培養の当初の培養対象植物は、栄養繁殖系植物で、発根も簡単にできるものが多かった。しかし、最近では、挿し木の困難なものなどが培養対象植物になってきている。オーキシンによって発根が促進されることがわかっているが、植物の根がどのような作用機構でできるのかが詳細に理解できていない。もともと培養容器内には、水分は十分すぎるほどあり、湿度も100%近くになっている。発根の難しい植物から根を出させるためにはおもにオーキシンで処理する方法しかないが、経験的に①活性炭を使用する、②水分の吸収を制限する、③光を強く当てる、④寒天を使用しないで別の支持体を使用する、など工夫を加えているが、効果的な方法がない。

### 5. ダニによるカビの大発生

組織培養技術が確立し、スタッフが増え、生産量が急速に増えた。生産の安定のために、クリーンシステムを導入し、確実な生産体制が確立した。培養室がいっぱいになり、これでほっとしているときに、どういうわけか、カビが発生した。作業上のミス、オートクレーブの故障、殺菌不十分などと原因を探していたが、わからずにカビの汚染が広がっていった。ある日、一人のスタッフが、培養苗を順化をしているときに、「この培養容器のなかに小さいモノが動いている」と叫んだ。それが、ダニを発見した最初であった。クリーンシステムのなかに、ダニが存在することが信じられなかったが、作業する人間が気がつかず培養室に持ち込み繁殖したホコリダニの一種ケナゴナダニの検出である。培養容器の培地において、ケナゴナダニをよんでいた。植物の組織培養の生産は、この発見からずっと今日まで、ダニとの

闘いが続いている。「カビがでたら、ダニだと思え」という合言葉で、徹底してダニを駆除することに力を注いでいる。

### 6. 培養容器からグリーンハウスへ

培養幼植物は、種子からつくった苗に比べて、生育が不揃いである。均一で揃った苗をつくるには順化技術も深く関与している。培養種苗を商品化するうえで、順化の作業はきわめて重要である。順化段階での生存率を高めることは、種苗生産コストにいちばん大きく影響する。培養容器内の植物の特徴は以下のとおりである。①培養容器内の湿度が100%近いので、植物体が水分過剰の状態であり、ともすれば植物体が半透明になり、ガラス化現象(ビトリフィケーション)を起こす。②葉の表面のワックス(クチクラ層)の形成が不十分であり、鉢上げ後の植物体からの水分損失が過多となる。③気孔の開閉機能が十分に発達していないために、植物体内の水分調整が不十分になる。④培養の段階で発根していても、根の機能が十分に発達していないため、根からの養分・水分の吸収が不十分になる。⑤植物体の光合成機能が低いため、苗の成長が遅くなる。このような培養植物の特徴のために、植物によっては順化がきわめて困難となる<sup>7)</sup>。

培養苗を順化する場合、①人工光線(2000~3000ルクス)から自然光線への変化、②湿度が、培養容器内の100%の状態から、グリーンハウスの70%から80%への変化、③寒天を土台としていたものから、培養土への移植、④無菌状態から、自然界における微生物との共存、という環境変化に植物を順応させることが求められている。そしていちばん大きな変化は、従属栄養から独立栄養への変化である。このような変化を急激に与えないために、培養器から取り出した幼植物は、高温条件下におき、その後湿度を除々に下げて、光量を除々に高め、気孔開閉機能の正常化、表皮クチクラ層の発達を促し、光合成能力を高める<sup>8)</sup>。この順化の仕事は、培養段階と順化における栽培管理の両方から改善をすすめることが必要である。また、グリーンハウスにおいていちばん大切なことは、植物に対する観察力である。植物の根と葉の状態から植物が何を欲しがっているかを読みとることが必要である。

### 7. 苗生産期間が長いこと

種子からのプラグ苗生産と比較するとよくわかるが、組織培養苗生産は、長期間を要しきわめて回転率が低い。そのことが、組織培養苗生産会社の経営を圧迫する要因でもある。苗をつくるのに、1年以上なかには3年もかかるものがある。それは、クリーンベンチのなかで

表 1 培養サイクルと培養期間

数量 (本)	倍率	10	5	×2 → 10	×3 → 30	×3 → 90	×3 → 270	×3 → 810	×3 → 2400	×3 → 7200	×3 → 21,000
1 か月サイクル	0	2	3	4	5	6	7	8	9	10(月)	
2 か月サイクル	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18(月)	
3 か月サイクル	0	3	5	8	11	14	17	20	23	26(月)	

株分けをしているにすぎないからである。1 サイクル 3 倍で増殖するとすれば、一体どれくらい期間がかかるのかについて表にすると表 1 のようになる (初期のメリステムカットの汚染率を 50% として考える)。

さらに、発根培地の培養期間が 1 か月、苗順化期間が 2 か月とすると、上記の月数に 3 か月たすことになる。増殖サイクルが 1 か月サイクルであれば、21,000 本を増殖するのに 13 か月、2 か月サイクルであれば、21 か月、3 か月サイクルであれば、29 か月かかる。また、発根率と順化率が、あわせて 80% であれば、上記の本数に 0.8 かける。いずれにせよ、早くても 1 年はかかる。

### アメリカと日本の組織培養事業の違い

#### 1. 日本の組織培養苗は高い

1994 年 7 月に金沢で開催された第 4 回植物組織培養シンポジウムのなかで、世界一の規模を誇るアメリカの組織培養生産会社トワイホードインターナショナルのチューさんから「日本の組織培養苗は高い。あまえてい」という指摘があった。北アメリカでは、マイクロカッティングの苗が 25 円、組織培養セル苗が 50 円であると紹介された<sup>9)</sup>。日本では、マイクロカッティングの苗は販売されておらず、組織培養したポット苗が 100 円から 500 円である。

#### 2. 少品目大量生産と多品目少量生産

アメリカの植物の組織培養業界は、大量生産システムを確立し、観葉植物を中心とした周年生産供給体制、組織培養苗の激しいコスト競争のなかにある。アメリカにおいてコスト的にあう組織培養苗の生産ユニットが 1000 万本以上といわれており、少品目大量生産が行なわれている。トワイホード社は、培養対象植物が、フィカス、シダ、シンゴニウム、スパシフィラムなどの観葉植物であり、年間 3500 万本生産している。それに対して日本は、組織培養会社で最大といわれるベルデイ社でやっと 500 万本を越えた段階である。品目的には、実にさまざまであり、アメリカの少品目大量生産システムに対して多品目少量生産である。培養対象植物は、スターチス、サツマイモ、イチゴ、ガーベラなどである。

また、季節的要因による植物の定植時期が異なることから月ごとに供給する品目が違い、生産段階において複雑な組合せが要求される。

#### 3. コスト計算を比較すると

アメリカの組織培養のコスト計算と比較して、日本では、① 気候が湿潤で、カビに汚染される率が高く、安定して生産するためには、クリーンシステムの導入がいる、② 設備投資が高いこともあるが、その設備をする土地代が高い、③ 組織培養のカット作業におけるパートタイマーのコストは、アメリカとほとんどかわらない状態になってきている。しかし、アメリカにおいては、2 シフトもしくは 3 シフト制をとれることにより、組織培養の施設をフルに使える、④ 電気代が高い、などがあげられる。このように、アメリカと日本の生産基盤の違いが、培養苗のコストに影響している。しかし、日本の組織培養苗が高ければ、いずれアメリカなど諸外国から組織培養苗が押し寄せてくることは必然性をもっており、いかに良い苗をつくり培養苗生産のコストダウンをはかるかが今後の大きな課題である。

### 農業とともに歩んで

小さな企業のささやかな取組みの経緯を説明してきた。植物の組織培養に携わる技術者として、現実の日本の農業に向きあいながら仕事をしている。沖縄という離れ島で日本の農業をみているといろんなことがよくみえてくる。「農業は効率的でない」という指摘から、海外から農産物を輸入すればよいという結論を急いで出しすぎのようである。蓮根の組織培養の技術を確立していたら、産地は輸入蓮根で打撃を受けていて、組織培養苗どころではないという状況が生まれている。輸入野菜は、現在 10% を越え、数年後には 30% を越えるかも知れないといわれている。農家のなかには、これ以上農業をつづけることができないといって、やめていく人もいる。しかし、農作物を教科書に書いてあるマニュアルで育てることは困難である。これまでの経験と知恵が農家がやめるたびに消えていくことになる。

一方、植物バイオテクは、アメリカでは、遺伝子組替え

技術により形質転換させたトマトを、人間が食べられるようになった。植物バイオテクは、「少年期」に入ったと評価している人がある。今後ますます、新しい植物が生まれるであろう。しかし、植物の遺伝子組替え技術の基本的部分を、アメリカのある企業が特許をとっていた。日本の農家の間では、特許はなじまないことであるが、今後そのようなことが、農家の間まで浸透していくことになるだろう。

植物のコピー業は、少なくとも、農家の立場にたった仕事でありたい。植物の組織培養技術で日本の農業がかえることができるならば、と希望に夢ふくらませて取り組んだ初心を忘れずに、農業と格闘していきたい。

#### 引用文献

1) 大澤勝次: 植物バイオテクの基礎知識, 農文協,

- 1994
- 2) 大澤勝次・田村賢次: 実例バイオテク農業 花・野菜・果物, 家の光協会, 1992
  - 3) 土下信人: 第4回植物培養シンポジウム要旨集, p. 7, 1994
  - 4) 土下信人: 農耕と園芸 **9月**, 88 (1987)
  - 5) M. E. Compton & J. E. Preece: ICPA News Letter: Exudation and Explant Establishment, International Association for Plant Tissue Culture, p. 9
  - 6) Wakasa: *Jpn. J. Breed.* **28**, 113 (1978)
  - 7) 古在豊樹・林真紀夫・富士原和宏・渡部一郎: 植物組織培養器内の物理的環境が培養小植物の成長に及ぼす影響に関する研究論文集, 千葉大学園芸学部, 1988
  - 8) 林真紀夫・古在豊樹: 農業及び園芸 **5**, 669 (1987)
  - 9) I. Y. E. Chu: 第4回植物組織培養シンポジウム要旨集, p. 1, 1994